MALARIA Ag CELISA

INTENDED USE AND PRINCIPLE OF THE TEST

The Malaria Ag CELISA™ kit has been designed as a confirmatory test for *falciparum* malaria in situations where traditional diagnosis is unclear, for screening blood transfusion products, or to confirm cases of travel-related infection. It is **not** intended to replace the conventional blood film diagnosis. The sandwich ELISA principle is employed. The microwells are pre-coated with anti-*P. falciparum* monoclonal capture antibody. A conjugate of enzyme labelled anti-*P. falciparum* monoclonal antibody is prepared and incorporated into the kit. The user adds a blood sample to the coated wells and if *P. falciparum* malaria antigen is present it binds to the coated well. All other blood components are removed by a washing step. The horse radish peroxidase enzyme labelled anti-malaria monoclonal indicator antibody conjugate is then added. It binds to any *falciparum* malaria antigen that has been captured on the well surface. The strip is then washed and the enzyme substrate solution is then added to the test wells and incubated. Colour generated indicates that *P. falciparum* malarial antigen in the test sample.

CONTENTS OF THE KIT

The Malaria Ag CELISA is available in 3 different formats:

		Standard	Automated	Bulk
MAMW	Celisa Plate – 1x96 wells - (single use only)	2 plates	2 plates	10 plates
MAPC	Positive Control	-	1 x 0.5mL	-
MANC	Negative Control	-	1 x 0.5mL	-
MAPO	Enzyme Conjugate (200x)	1 x 0.12mL	1 x 0.24mL	1 x 1.2mL
MACD	Conjugate Diluent	1 x 24mL	2 x 18mL	1 x 120mL
MAPT	PBS/Tween (20x)	1 x 125mL	1 x 125mL	1 x 650mL
MASC	Substrate Chromogen (TMB) (20x)	1 x 1.2mL	1 x 2.4mL	1 x 7.5mL
MASB	Substrate Buffer	1 x 24mL	2 x 18mL	1 x 125mL
MASS	Stopping Solution	1 x 12mL	1 x 18mL	1 x 60mL

Store all components at 2-8°C.Expiry dates are clearly marked on each kit component and on the box. Expiry dates do not change once opened.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

Malaria positive blood samples, distilled water, micropipettes and tips, clean glassware or plastic containers for solutions, humid chamber, ELISA washer, spectrophotometer to read absorbances at a single wavelength of 450nm, or at dual wavelengths of 450nm and 620nm.

PRECAUTIONS

For in vitro diagnostic use only. Reagents should not be used after the expiry date shown on the label. If protective packaging is damaged, contact your local distributor and ask for a replacement. Do not mix reagents from different kits. Thimerosal preservative added to some components is a poison. Exercise caution when handling these components. The stopping solution is corrosive. Avoid contact with skin, eyes and mucous membranes. Dispense all reagents with care to avoid cross contamination of wells. Avoid exposure of the substrate to light. Treat all clinical and control material as though potentially infectious and dispose of in accordance with local operating regulations. For further information, please refer to the Material Safety Data Sheet.

INSTRUCTIONS FOR USE

Preparation of Wash Buffer

If crystals are present, warm the concentrate to dissolve. For each microplate, add 50mL PBS-Tween concentrate MAPT to 950mL of distilled water. Label the bottle WASH BUFFER. Store at 2-8°C.

Preparation of Samples

Collect patient blood by standard venipuncture procedure using an anticoagulant. Lyse blood by freezing, use the lysed blood as the test specimen (SAMPLE). Serum or plasma may be used as an alternative to whole blood but the use of these samples may result in the loss of sensitivity. The blood should be stored below -10°C if the analysis is delayed.

Positive and Negative Controls

For Standard and Bulk versions of the kit, use the Conjugate Diluent MACD undiluted as the kit Negative Control, and use a confirmed Malaria positive blood sample as the Positive Control.

Assay Procedure

1. Bring all reagents to room temperature (18-25 °C) before use.
2. Prepare WASH BUFFER (see Preparation of Wash Buffer)
3. Remove required number of MAMW strips. Reseal the foil bag containing unused microwell strips immediately with tape.
4. Pipette 100uL of the SAMPLE, positive control (MAPC or known positive) and negative control (MANC or MACD), into individual microwells. Include two positive and two negatives in each assay run. Cover and incubate for one (1) hour at room temperature in a humid chamber.
5. In the last 10 minutes of the incubation period, prepare the working strength CONJUGATE. Add 5µL of conjugate concentrate MAPO to 995µL of conjugate diluent MACD and mix thoroughly (allow 1mL per strip of 8 wells).
6. Wash the wells preferably using an automatic plate/strip washer or manually as follows:
   - Empty contents from the wells. Refill with the WASH BUFFER.
   - Repeat this process a further four (4) times. After the fifth wash, bang inverted wells dry on absorbent tissue.
   - NB: take care when flicking out plates, hold side of frame firmly to hold strips in place.
7. Add 100µL of CONJUGATE to each well. Incubate for one (1) hour at room temperature in a humid chamber.
8. In the last 10 minutes of the incubation period, prepare the working strength SUBSTRATE. Add 50µL of substrate chromogen MASC to 950µL of substrate buffer MASB and mix thoroughly (allow 1mL per strip of 8 wells). The stability of the solution is 30 minutes.
9. Repeat washing as in step 6.
10. Add 100µL of fresh SUBSTRATE and incubate in the dark (covered) at room temperature for 15 minutes.
11. Add 50 µL of Stopping Solution MASS. Tap the plate to mix.
12. Read the results visually or in a spectrophotometer at 450nm, or 450nm/620nm, blanking the machine on air.

READING AND INTERPRETATION OF RESULTS AND DIAGNOSIS

Visually

Observe the colour intensity of the control and specimen wells. The Positive Control should be blue before, and yellow after stopping.

Photometrically

Read the microwell plate at 450nm or 450nm / 620nm in a compatible ELISA plate reader, blanked against air.

For the test results to be accepted the Negative Control must read as follows:

	O.D Value (450nm)
Negative Control	< 0.1
Cut-Off level	= Negative Control OD + 0.1

Negative blood samples should give optical density readings below 0.1 OD units. However, to allow for inter-laboratory variation we strongly recommend that each laboratory run a number of known negative blood samples to allow standardisation of the CELISA positive / negative cut-off level.

All specimens with an absorbance value above the cut-off level should be considered positive for *P. falciparum* antigen. A positive result indicates the presence of *P. falciparum* antigen. This is suggestive of current or very recent infection. The assay has been shown to detect *P. falciparum* infection at parasitaemias as low as 0.001%. The intensity of colour is not proportional to the level of parasitaemia. *P. vivax*, *P. ovale* and *P. malariae* infections are not detected. Please note that the test may remain positive for several days after parasites are no longer detectable in blood films.

WASTE DISPOSAL
Dispose of any unused components as biohazardous waste. For more information, please refer to the MSDS.

SENSITIVITY, SPECIFICITY, & OTHER DATA ON THE MALARIA AG CELISA
Refer to summary table at end of insert. All data on the Malaria Ag CELISA can be obtained in the product information sheet. Please ask your local distributor or contact Cellabs.

INDEMNITY NOTICE
Modifications or changes made in the recommended procedure may affect the stated or implied claims. A positive or negative result does not preclude the presence of other underlying causative agents. Cellabs and its agents and distributors shall not be liable for damages under these circumstances.

Français

MALARIA Ag CELISA

PRINCIPE DU TEST ET INDICATIONS D'EMPLOI
La trousse Malaria Ag CELISA™ est un test de confirmation de la malaria (paludisme) *falciparum* lorsque les méthodes traditionnelles sont peu concluantes, en transfusion sanguine ou pour confirmer des cas d'infection de voyageur. Ce test n'est pas conçu pour remplacer le diagnostic conventionnel à la goutte épaisse. Le test est un ELISA en sandwich. Les micropuits sont couverts d'un anticorps monoclonal de capture anti-*P.falciparum*. Un second anticorps monoclonal anti-*P.falciparum* conjugué à la peroxydase, fourni dans la trousse est ensuite préparé. L'utilisateur ajoute une goutte de sang dans le micropuits et si l'antigène de la malaria *falciparum* est présent, il se lie à la paroi du micropuits. Une étape de lavage permet d'éliminer tout composant sanguin restant. On ajoute alors un anticorps monoclonal de détection, conjugué à la peroxydase de raifort. Il se lie à l'antigène de la malaria *falciparum* immobilisé sur la paroi du micropuits. Les puits sont lavés et une solution substrat enzymatique est ajoutée au puits et incubée. La production de couleur indique la présence d'antigène de la malaria *falciparum* dans l'échantillon testé.

COMPOSITION DU COFFRET
La trousse Malaria Ag CELISA ™ est disponible en 3 formats :

		Standard	Automate	Recherche
MAMW	Plaque CELISA – 1x96 puits (usage unique)	2 plaques	2 plaques	10 plaques
MAPC	Contrôle positif	-	1 x 0.5mL	-
MANC	Contrôle négatif	-	1 x 0.5mL	-
MAPO	Conjugué enzymatique (200x)	1 x 0.12mL	1 x 0.24mL	1 x 1.2mL
MACD	Diluant pour conjugué	1 x 24mL	2 x 18mL	1 x 120mL
MAPT	PBS/Tween (20x)	1 x 125mL	1 x 125mL	1 x 650mL
MASC	Substrat chromogène (TMB) (20x)	1 x 1.2mL	1 x 2.4mL	1 x 7.5mL
MASB	Tampon de substrat	1 x 24mL	2 x 18mL	1 x 125mL
MASS	Solution d'arrêt	1 x 12mL	1 x 18mL	1 x 60mL

Conserver tous les composants à 2-8°C. Les dates de péremption sont clairement marquées sur chaque composant et sur le coffret de la trousse. L'ouverture n'altère pas les dates de péremption.

MATERIELS REQUIS NON FOURNIS
Echantillon sanguin positif pour la malaria; micropipettes et embouts; eau distillée, verrerie propre ou récipients plastiques pour solutions; chambre humide; laveur ELISA ou bouteille de rinçage; Spectrophotomètre à plaques ELISA capable de lire à 450 nm ou à 450/620 nm.

PRECAUTIONS
Produit à usage uniquement *in vitro*. Ne pas utiliser après la date de péremption indiquée sur l'étiquette. Si l'emballage est abîmé, contactez votre fournisseur local pour un remplacement. Ne pas mélanger les réactifs de coffrets différents. Certains réactifs contiennent du Thimerosal comme préservatif, qui est un poison. Manipulez ces réactifs avec soin. La solution d'arrêt est corrosive. Evitez tout contact avec la peau, les yeux ou les membranes muqueuses. Ajouter les réactifs en évitant tout risque de contamination croisée des puits. Eviter d'exposer le substrat à la lumière. Les échantillons cliniques et les contrôles doivent être considérés comme potentiellement infectieux et jetés selon les procédures en vigueur. Consultez la fiche de sécurité du produit (notice MSDS) pour plus amples informations.

INSTRUCTIONS D'EMPLOI

Préparation du tampon de lavage
Si des cristaux apparaissent dans le concentré, réchauffer le réactif pour les dissoudre. Pour chaque plaque de micropuits, ajouter 50 mL de concentré PBS/Tween MAPT à 950 mL d'eau distillée. Libeller la bouteille WASH BUFFER. Conserver à 2-8°C.

Préparation des échantillons
Collecter l'échantillon patient par ponction veineuse normal, sous anticoagulant. Congeler le sang pour produire un lysat, et utiliser ce lysat comme spécimen à doser SAMPLE. Le sérum ou le plasma peuvent être utilisés au lieu du sang total, mais l'emploi de ces échantillons risque de résulter en une sensibilité amoindrie du dosage. Le sang doit être conservé à -10°C si le dosage est retardé.

Contrôles positifs et négatifs
Pour les version Standard et Recherche du produit, utiliser le diluant du conjugué MACD comme contrôle négatif et un échantillon sanguin confirmé positif pour la malaria comme contrôle positif.

Mode D'emploi

1. Ramener tous les réactifs à température ambiante (18-25°C) avant l'emploi.
2. Préparer le WASH BUFFER (voir Préparation du Tampon de Lavage).
3. Retirer le nombre requis de micropuits MAMW. Immédiatement refermer le sac contenant les micropuits restants avec du ruban adhésif.
4. Ajouter 100 µL de SAMPLE, de contrôle positif (MAPC ou échantillon patient positif) et de contrôle négatif (MACD ou MANC) dans chaque micropuits. Inclure deux contrôles positifs et deux contrôles négatifs dans chaque série de dosage. Couvrir et incuber une (1) heure à température ambiante (TA).
5. Dans les 10 dernières minutes de l'incubation, préparer la solution de travail de CONJUGATE. Ajouter 5 µL de conjugué concentré MAPO à 995 µL de diluant de conjugué MACD et mélanger vigoureusement (prévoir 1 mL de solution de travail par barrette de 8 micropuits).
6. Laver les micropuits au laveur automatique ou manuellement comme suit :

- Vider le contenu des micropuits. Remplir les micropuits de WASH BUFFER.
- Répéter l'opération quatre (4) fois. Apres le cinquième lavage, rabattre vigoureusement la plaque de micropuits inversée sur une serviette absorbante jusqu'à ce qu'aucun liquide n'en sorte.
- NB : opérez cette étape avec précaution, en serrant le cadre de la plaque à micropuits pour éviter qu'ils ne s'en délogent.

7. Ajouter 100 µL de CONJUGATE dans chaque puits. Incuber une (1) heure à température ambiante (TA) en chambre humide.
8. Dans les 10 dernières minutes de l'incubation, préparer la solution de travail de SUBSTRATE. Ajouter 50 µL de substrat chromogène MASC à 950 µL de tampon de substrat MASB et mélanger vigoureusement (prévoir 1 mL de solution de travail par barrette de 8 micropuits). Cette solution de travail est stable pendant 30 minutes.
9. Répéter le lavage comme à l'étape 6.
10. Ajouter 100 µL de SUBSTRATE frais et incuber (couvert) à l'obscurité pendant 15 minutes à température ambiante.
11. Ajouter 50 µL de solution d'arrêt MASS. Taper la plaque pour mélanger.
12. Lire les résultats visuellement ou au spectrophotomètre à 450 nm ou à 450nm/620 nm, calibré à l'air.

LECTURE, INTERPRETATION DES RESULTATS ET DIAGNOSTIQUE

Lecture visuelle

Observer l'intensité couleur des échantillons et des contrôles. Les contrôles positifs doivent être bleu avant l'étape de solution d'arrêt et jaune après.

Lecture spectrophotométrique

Lire les résultats dans un spectrophotomètre à microplaque ELISA calibré à l'air à 450 nm ou 450 nm/620 nm. Pour être valides, les valeurs de contrôles négatifs doivent être comme suit :

	OD Value 450 nm
Contrôle négatif	< 0.1
Seuil discriminant (« cut off »)	D.O. du Contrôle Négatif + 0.1

Les échantillons de sang négatifs doivent donner une densité optique inférieure à 0.1 unités de D.O. Néanmoins, afin de compenser pour les variations inter laboratoires, nous recommandons à chaque laboratoire d'inclure un certain nombre d'échantillons négatifs confirmés afin d'étalonner le seuil discriminant entre positif et négatif.

Tout spécimen avec une absorbance supérieure au seuil discriminant doit être considéré comme positif pour l'antigène de *P. falciparum*. Un résultat positif indique la présence d'antigène de *P. falciparum*. Ceci suggère une infection en cours ou très récente. Il a été démontré que le dosage permet de détecter une infection à *P. falciparum* dans des parasitémies aussi faibles que 0.001%. L'intensité couleur n'est pas proportionnelle au niveau de parasitémie. Les infections à *P. vivax*, *P. ovale* et *P. malariae* ne sont pas détectées. Notez que le test peut demeurer positif plusieurs jours après que le parasites ait disparu des examens à la goutte épaisse.

DECHETS

Jetez tout composant inutilisé dans la poubelle aux déchets biologiques. Consultez la fiche de sécurité du produit (notice MSDS) pour plus amples informations.

SENSIBILITE, SPECIFICITE ET AUTRES DONNEES DU TEST

Referez-vous au tableau récapitulatif en fin de notice. Toutes les données sur le test Malaria Ag CELISA sont sur la fiche technique du produit. Contactez Cellabs ou votre distributeur pour l'obtenir.

NOTICE D'INDEMNITE

Toute modification ou variation du protocole d'emploi recommandé peut affecter les performances annoncées du produit. Un résultat positif ou négatif n'exclue pas la présence d'autres agents causatifs sous-jacents. Cellabs et ses agents et distributeurs ne sont légalement responsables d'aucun dommage dans de telles circonstances.

CeLLabs

Deutsch

MALARIA Ag CELISA

VERWENDUNGSZWECK UND TESTPRINZIP

Der Malaria Ag Celisa Kit dient als Bestätigungstest für *Plasmodium falciparum* in den Fällen, in denen die herkömmliche Diagnostik unklar ist, zur Überprüfung von Bluttransfusionsprodukten, oder als Bestätigungstest bei reisebedingten Infektionen. Der Test ist nicht geeignet, die konventionelle, mikroskopische Diagnostik zu ersetzen.Der Test arbeitet nach dem Sandwich ELISA-Prinzip. Die Vertiefungen der Mikrotiterplatte sind mit monoklonalem anti-*P. falciparum* Capture-Antikörper beschichtet. Ein monoklonaler, Enzym-konjugierter anti-*P.falciparum*-Antikörper ist im Kit integriert. Es werden Blutproben in die jeweiligen beschichteten Vertiefungen gegeben und falls *P.falciparum*-Malariaantigene vorhanden sind, werden sie in den beschichteten Vertiefungen gebunden. Alle anderen Blutbestandteile werden durch einen Waschschritt entfernt. Anschließend gibt man einen mit Meerrettichperoxidase-konjugierten monoklonalen anti-*P. falciparum*-Malaria-Indikator-Antikörper hinzu . Er bindet jegliche *P. falciparum* Malaria-Antigene, die sich auf der Oberfläche der Vertiefungen befinden. Anschließend werden die Streifen gewaschen. Danach gibt man das Enzymsubstrat zu und inkubiert. Eine Farbentwicklung zeigt an, dass *P. falciparum* Malaria-Antigene in der Probe vorhanden sind.

PACKUNGSINHALT

Der Malaria Ag CELISA ist in 3 verschiedenen Größen erhältlich:

		Standard	**Automated**	**Bulk**
MAMW	Celisa Platte – 1x96 Vertiefungen - (nur zum einmaligen Gebrauch)	2 Platten	2 Platten	10 Platten
MAPC	Positive Kontrolle	-	1 x 0.5mL	-
MANC	Negative Kontrolle	-	1 x 0.5mL	-
MAPO	Enzymkonjugat (200x)	1 x 0.12mL	1 x 0.24mL	1 x 1.2mL
MACD	Konjugat-Verdünnungsmedium	1 x 24mL	2 x 18mL	1 x 120mL
MAPT	Waschpuffer PBS/Tween (20x)	1 x 125mL	1 x 125mL	1 x 650mL
MASC	Substrat-Chromogen (TMB) (20x)	1 x 1.2mL	1 x 2.4mL	1 x 7.5mL
MASB	Substratpuffer	1 x 24mL	2 x 18mL	1 x 125mL
MASS	Stopplösung	1 x 12mL	1 x 18mL	1 x 60mL

Alle Reagenzien sollten bei 2-8 °C gelagert werden. Das Verfalldatum ist auf allen Reagenzien und der Verpackung deutlich gekennzeichnet. Das Verfalldatum ändert sich nicht nach dem Öffnen.

ZUSÄTZLICH BENÖTIGTE REAGENZIEN UND MATERIALIEN

Patientenserum, Mikropipetten mit Einwegspitzen, feuchte Kammer, saubere Glasbehälter oder Plastikbehälter für Lösungen, dest. Wasser, ELISA-Waschgerät, Spektrophotometer zum Ablesen der OD-Werte bei einzelner Wellenlänge von 450 nm oder bei doppelter Wellenlänge von 450 und 620 nm.

VORKEHRUNGEN

Nur für die *in vitro.* Diagnostik Reagenzien dürfen nicht nach dem Verfalldatum benutzt werden. Falls die Verpackung beschädigt wurde, bitte bei unserem Vertreiber Ersatz anfordern. Reagenzien von unterschiedlichen Kits sollten nicht zusammen verwendet werden. Das Thimerosal-Konservierungsmittel, das bei manchen Bestandteilen hinzugefügt wurde, ist giftig. Die Reagenzien sollten daher mit Vorsicht verwendet werden. Die Stopplösung ist ätzend. Kontakt mit der Haut, den Augen und Schleimhäuten vermeiden. Alle Reagenzien sorgfältig pipettieren, um Kreuzkontamination der Mikrotiterplattenvertiefungen zu vermeiden. Das Substrat sollte nicht dem Licht ausgesetzt werden. Alle klinischen und Kontrollmaterialien sollten behandelt werden, als wären sie potentiell infektiös und nach den jeweils laborüblichen Vorschriften entsorgt werden. Für weitere Informationen siehe die Sicherheitsdatenblätter.

GEBRAUCHSANLEITUNG

Ansetzen des Waschpuffers
Falls sich Kristalle im Konzentrat befinden, sollte es erwärmt werden, bis sich alles gelöst hat. Für je eine Microtitterplatte 50ml PBS-Tween Konzentrat MAPT verwenden und mit 950ml dest. Wasser mischen. In eine Flasche geben, mit WASH BUFFER, beschriften und bei 2-8 °C. lagern.

Probenvorbereitung
Vollblut durch die Standard-Venenpunktionsmethode unter Zusatz von gerinnungshemmendem Mittel gewinnen. Blut durch Einfrieren lysieren, anschließend das Material zum SAMPLE Testen verwenden. Als alternatives Material können auch Serum oder Plasma verwenden werden, jedoch können die Ergebnisse im Vergleich zum Vollblut einen Sensitivitätsverlust beinhalten.Bei nicht sofortiger Testung Blut unter –10 °C lagern..

Positiv - und Negativkontrollen
Für die Standard- und die Bulk-Version der Kits das Konjugat-Verdünnungsmedium MACD unverdünnt als Negativkontrolle einsetzen. Als Positivkontrolle eine als positiv bestätigte Patientenprobe verwenden.

Testdurchführung

1. Vor Gebrauch,alle Reagenzien auf Raumtemperatur bringen.
2. WASH BUFFER vorbereiten (siehe oben).
3. Die entsprechende Anzahl an MAMW Streifen herausnehmen. Danach die Verpackung mit unbenützten Mikrotiter-Streifen sofort wieder mit Klebeband verschließen.
4. 100uL der SAMPLE, Positivkontrolle MAPC und Negativkontrolle MANC oder MACD, in die einzelnen Vertiefungen pipettieren. Es sollten bei jedem Testansatz je 2 Kontrollen verwendet werden. Anschließend die Sreifen abdecken und in der feuchten Kammer für 1 Stunde bei Raumtemperatur inkubieren.
5. In den letzten 10 Minuten der Inkubationszeit das CONJUGATE vorbereiten. 5µL des Konjugat-Konzentrat MAPO zu 995µL des Konjugat-Verdünnungsmediums MACD geben und gut mischen (pro Streifen mit 8 Vertiefungen 1mL Lösung herstellen).
6. Die Streifen bevorzugt mit einem Waschautomaten waschen, ansonsten per Hand:

   - Den Inhalt der Vertiefungen ausleeren und WASH BUFFER hinzugeben.

   - Das Ganze 4 mal wiederholen. Nach dem fünften Mal restliche Tropfen durch Klopfen der umgekehrten Platte auf einem Papierhandtuch entfernen. Vorsicht !!! Streifen können aus der Halterung herausfallen.
7. 100µL CONJUGATE in jede Vertiefung pipettieren Anschließend die Sreifen abdecken und in der feuchten Kammer für 1 Stunden bei Raumtemperatur inkubieren
8. In den letzten 10 Minuten der Inkubationszeit das SUBSTRATE vorbereiten. 50µL des Substrat-Chromogens MASC zu 950µL des Substratpuffers MASB geben und gut mischen. (pro Streifen mit 8 Vertiefungen 1mL Lösung herstellen). Die Lösung ist bis zu 30 Minuten stabil.
9. Waschschritte wie unter Punkt 6.
10. 100µL SUBSTRATE in jede Vertiefung pipettieren, dann im Dunkeln zugedeckt 15 Minuten bei Ramtemperatur inkubieren .
11. 50 µL Stopplösung MASS in jede Vertiefung pipettieren, Platte vorsichtig bewegen, so dass sich die Lösungen vermischen.
12. Die Ergebnisse entweder mit dem Auge ablesen oder mit dem Spektrophotometer bei 450nm, oder 450nm/620nm, Nullwert gegen Luft abgleichen.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Visuel
Die Farbintensitäten der Kontrollen und Patienten begutachten. Die Positivkontrolle sollte erst blau sein und nach Zugabe der Stopplösung zu Gelb wechseln.

Photometrisch
OD-Werte in den Microtittervertiefungen bei 450nm oder 450nm / 620nm mit einem geeigneten ELISA Meßgerät ablesen, Nullwert gegen Luft abgleichen.

Für valide Meßergebnisse muß die Negativkontrolle wie folgt aussehen:

	O.D Value (450nm)
Negativkontrolle	< 0.1
Cut-Off level	= OD Negativkontrolle + 0.1

Negative Blutproben sollten einen Meßwert OD <0.1 haben. Unter Berücksichtigung der Inter-Laborvarianz empfehlen wir jedoch, daß jedes Labor einige bekannt negative Blutproben mißt um eine laborinterne Standardisierung des CELISA positiven/negativen Cut-off –Levels zu erhalten.

Alle Proben, die einen höheren Meßwert , als der Cut-off, haben, sollten als *P. falciparum* Antigen-positive Proben betrachtet werden. Ein positives Ergebnis deutet auf eine aktuelle oder erst kürzlich erfolgte Infektion hin. Die Testgenauigkeit hat gezeigt, dass *P. falciparum* Infektionen bei Parasitaemien,mit einer Empfindlichkeit bis zu 0.001% entdeckt werden. Die Intensität der Farbe ist nicht proportional zu der Menge der Parasitaemien.
P. vivax, *P. ovale* und *P. malariae* Infektionen werden mit diesem Test nicht nachgewiesen. Es ist zu beachten,, daß der Test auch noch einige Tage später positiv sein kann, obwohl man unter dem Mikroskop keine Parasiten mehr entdecken kann.

ENTSORGUNG

Alle nicht benötigten Komponenten müssen als biogefährdender Müll entsorgt werden. Für weitere Informationen, siehe Sicherheitsdatenblätter (MSDS).

SENSITIVITÄT, SPEZIFITÄT UND ANDERE DATEN ZU DEM MALARIA AG CELISA

Siehe zusammenfassende Tabelle am Ende dieser Anleitung. Alle Daten zu dem Malaria Ag CELISA können aus der Produktinformation entnommen werden. Bitte fragen sie ihren Vertreiber oder kontaktieren sie Cellabs

HAFTUNGSAUSSCHLUSS

Änderungen oder Modifikationen der empfohlenen Durchführung können die gemachten oder gefolgerten Angaben beeinflussen. Ein positives oder negatives Ergebnis schließt nicht andere zugrunde- liegende Krankheiten aus. Cellabs und seine Vertreiber sind für Folgen derartiger Konstellation nicht haftbar

CeLLabs

Español

MALARIA Ag CELISA

APLICACIONES Y PRINCIPIO DEL TEST

El kit Malaria Ag Celisa™ se ha diseñado para utilizarse como un test de confirmación para malaria *falciparum* en situaciones en las que el diagnóstico tradicional es incierto, para el análisis del material para transfusiones de sangre, o para confirmar casos de infecciones relacionadas con viajes. No se pretende que reemplaze a los diagnósticos convencionales en sangre. El principio empleado es el "sandwich" ELISA. Los micropocillos están recubiertos con el anticuerpo monoclonal de captura anti-*P. falciparum*. En el kit viene incluido un conjugado preparado de anticuerpo monoclonal anti-*P. falciparum* conjugado con el enzima. El usuario añade una muestra de sangre a los pocillos recubiertos, y si el antígeno de la malaria *P. falciparum* se halla presente se une al micropocillo. El resto de componentes de la sangre sin unir se eliminan con un paso de lavado. Se añade posteriormente el conjugado formado por el anticuerpo monoclonal anti-malaria conjugado con peroxidasa. Este se une a cualquier antígeno de malaria *falciparum* que haya sido capturado en la superficie del pocillo. La tira se lava y se añade a los pocillos la solución de substrato del enzima y se deja incubar. El color generado indica que el antígeno de la malaria *P. falciparum* está presente en la muestra.

CONTENIDO DEL KIT

El Malaria Ag CELISA está disponible en 3 formatos diferentes

		Estándar	Automático	Bulk
MAMW	Placa Celisa –1 x 96 pocillos (un único uso)	2 placas	2 placas	10 placas
MAPC	Control Positivo	-	1 x 0.5mL	-
MANC	Control Negativo	-	1 x 0.5mL	-
MAPO	Conjugado del enzima (200x)	1 x 0.12mL	1 x 0.24mL	1 x 1.2mL
MACD	Diluyente del conjugado	1 x 24mL	2 x 18mL	1 x 120mL
MAPT	PBS/Tween (20x)	1 x 125mL	1 x 125mL	1 x 650mL
MASC	Cromógeno del Substrato (TMB) (20x)	1 x 1.2mL	1 x 2.4mL	1 x 7.5mL
MASB	Solución de substrato	1 x 24mL	2 x 18mL	1 x 125mL
MASS	Solución de parada	1 x 12mL	1 x 18mL	1 x 60mL

Almacenar todos los componentes a 2-8^{O}C. Las fechas de caducidad están indicadas específicamente en cada uno de los componentes del kit y en el envase externo del mismo. Las fechas de caducidad no cambian tras la apertura de los viales

MATERIALES REQUERIDOS QUE NO SE PROPORCIONAN

Muestras de sangre positivas para la malaria, acqua distillata, micropipetas y puntas, limpios de vidrio o plástico para las soluciones recipientes, cámara húmeda, lavador de ELISA, Espectrofotómetro para leer absorbancias a una única longitud de onda única de 450nm, o a longitudes de onda duales de 450nm y 620nm, agua destilada.

PRECAUCIONES

Para utilización exclusiva en el diagnóstico in vitro. No utilizar después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. Si se observase que el envase exterior está dañado, contactar con su distribuidor local y solicitar un kit nuevo. El conservante timerosal añadido a algunos componentes es un veneno. La manipulación de estos componentes debe realizarse con precaución. La solución de parada es corrosiva. Evitar el contacto con la piel, ojos y mucosas. Añadir todos los reactivos con cuidado para evitar la contaminación cruzada entre unos pocillos y otros. Evitar exponer el substrato a la luz. Tratar todas las muestras clínicas y los controles como material potencialmente infeccioso y eliminar de acuerdo con la normativa local. Para más información al respecto, consultar la ficha de seguridad (FDS).

INSTRUCCIONES DE USO

Preparación de la solución de lavado

Si se observa cristalización en el concentrado, disolverpor calentamiento. Para cada microplaca añadir 50mL de PBS-Tween 20 concentrado MAPT a 950mL de agua destilada. Etiquetar el frasco como WASH BUFFER y almacenar de 2 a 8^{o}C.

Preparación de las Muestras

Recoger la muestra de sangre del paciente por el procedimiento estándar de venopunción empleando un anticoagulante. Lisar la sangre congelándola y usar la sangre lisada como muestra para el ensayo. Puede emplearse suero o plasma como alternativa a la sangre completa, pero el uso de estas muestras puede tener como resultado una pérdida de sensibilidad. Hay que almacenar la sangre a menos de -10^{o}C si no se realiza el análisis de inmediato.

Controles Positivos y Negativos

Para las presentaciones estándar y en bulk, usar el diluyente de conjugado MACD sin diluir como control negativo del kit, y usar una muestra de sangre confirmada como positiva para Malaria como Control Positivo.

Procedimiento del ensayo

1. Permitir que todos los reactivos alcancen la temperatura ambiente (de 18 a 25 ^{o}C) antes de su uso.
2. Preparar la solución de lavado WASH BUFFER (ver preparación de solución de lavado)
3. Retirar el número necesario de tiras MAMW. Volver a sellar la bolsa de aluminio con las tiras de los micropocillos sin usar inmediatamente con el autocierre.
4. Pipetear 100µL de la muestra SAMPLE, el control positivo (MAPC o muestra conocida positiva) y control negativo (MANC o MACD) , a sus micropocillos individuales. Incluir dos controles positivos y dos controles negativos en cada fase del ensayo. Tapar e incubar durante una (1) hora a temperatura ambiente (TA) en una cámara húmeda.
5. En los últimos 10 minutos del periodo de incubación, preparar el CONJUGATE a la dilución de trabajo. Añadir 5µL de conjugado concentrado MAPO a 995µL de diluyente de conjugado MACD y mezclar completamente (preparar 1mL para cada tira de 8 pocillos).
6. Lavar los pocillos, preferentemente con un lavador de placas automático, o bien de forma manual como sigue:
   - Vaciar el contenido de los pocillos. Rellenar con WASH BUFFER.
   - Repetir este proceso otras cuatro (4) veces. Sacudir para eliminar los contenidos de los pocillos al final del último lavado
   - NB: Al voltear las placas; tener la precaución de sujetar firmemente el lado del soporte para mantener las tiras en su lugar.
7. Añadir 100µL de CONJUGATE a cada pocillo. Incubar durante una (1) hora a temperatura ambiente (TA) en una cámara húmeda.
8. En los últimos 10 minutos del periodo de incubación, preparar el SUBSTRATE a la dilución de trabajo. Añadir 50µL de cromógeno de substrato MASC a 950µL de solución de substrato MASB y mezclar bien (preparar 1mL para cada tira de 8 pocillos). La estabilidad de la solución es de 30 minutos.
9. Repetir lavado como en el paso 6.
10. Añadir 100µL de SUBSTRATE fresco e incubar en la oscuridad (tapado) a tª ambiente durante 15 minutos.
11. Añadir 50 µL de solución de parada MASS. Golpear suavemente la placa para mezclar.
12. Leer los resultados de forma visual o con un espectrofotómetro a 450nm, o 450nm/620nm, calibrando el instrumento utilizando como blanco un pocillo vacío.

LECTURA E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS Y DIAGNOSTICO

Visualmente

Observar la intensidad del color de los pocillos de control y de la muestra. El control positivo debería ser azul antes y amarillo después de parar la reacción.

Por fotometría

Leer la microplaca a 450nm o 450nm / 620nm en un lector compatible con placas de ELISA, calibrado con un pocillo vacío como blanco.

Para aceptar los resultados del test, el control negativo tiene que mostrar los siguientes valores:

	Valor O.D (450nm)
control negativo	< 0.1
nivel Cut-Off	= OD control negativo + 0.1

Las muestras de sangre negativas deberían dar una densidad óptica por debajo de 0.1 unidades OD. Sin embargo, para dar un margen a la variación entre distintos laboratorios creemos muy aconsejable que cada laboratorio realice el ensayo de una serie de muestras de sangre negativas conocidas que permita la estandarización del valor cut-off positivo/negativo para el CELISA.

Todas las muestras con un valor de absorbancia por encima del valor del cut off tienen que considerarse como positivas para el antígeno del *P. falciparum*. Un resultado positivo indica la presencia del antígeno del *P. falciparum*. Esto sugiere una infección actual o muy reciente. Se ha demostrado que este ensayo detecta la infección por *P. falciparum* en parasitemias tan pequeñas como del 0.001%. La intensidad del color no es proporcional al nivel de parasitemia. El test no detecta las infecciones por *P. vivax*, *P. ovale* and *P. malariae*. Debe tenerse en cuenta que el test puede seguir dando resultado positivo durante varios días aun después de que los parásitos ya no sean detectables en los ensayos clásicos en sangre.

ELIMINACIÓN DE LOS RESIDUOS
Los componentes sin usar deben eliminarse como material de riesgo biológico. Para más información, consultar la ficha de seguridad FDS.

SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD, Y OTROS DATOS DEL THE MALARIA AG CELISA
Consultar la tabla resumen al final de este manual de instrucciones. Todos los datos del Malaria Ag CELISA pueden obtenerse en la ficha técnica del producto. Para más información, consultar con su distribuidor local o contactar con Cellabs.

INFORMACION SOBRE POSIBLES INDEMNIZACIONES
Las modificaciones o cambios realizados sobre el procedimiento recomendado pueden afectar a las posibles reclamaciones tanto directa como indirectamente. Un resultado positivo o negativo no excluye la presencia de otros agentes etiológicos subyacentes. Ni Cellabs ni sus agentes o distribuidores serán legalmente responsables por daños producidos bajo estas circunstancias.

FIGURE 1 MALARIA Ag CELISA DIAGRAM FOR USE

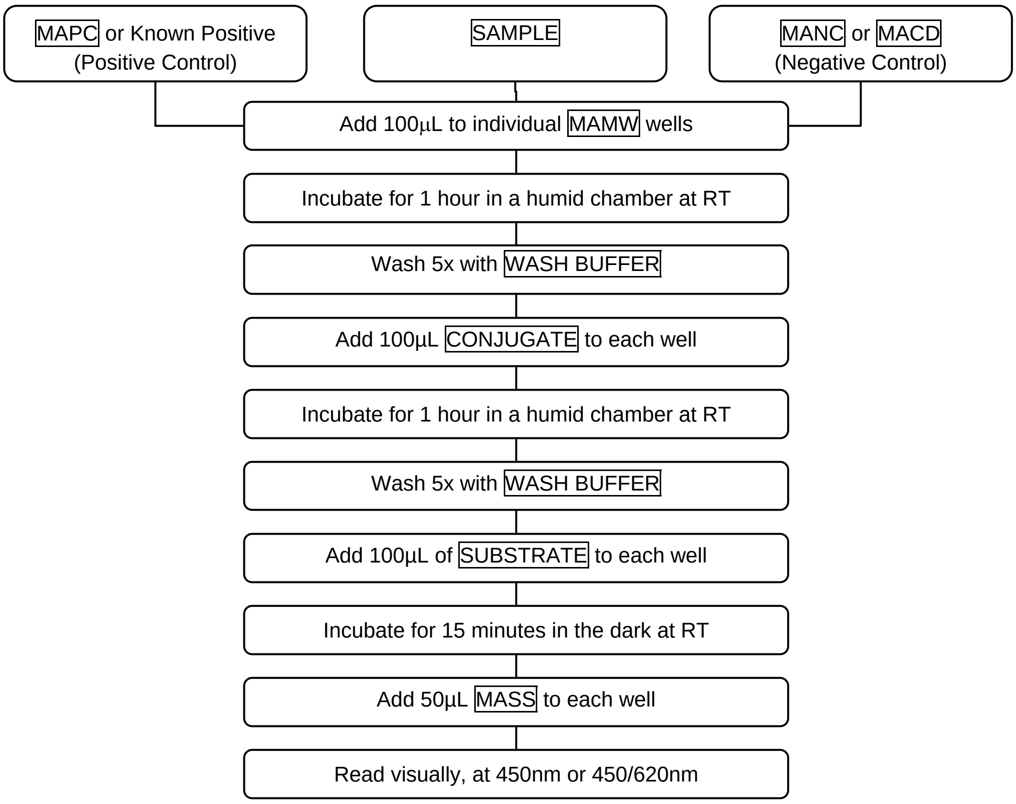


TABLE 1: SENSITIVITY, SPECIFICITY, & OTHER DATA ON THE MALARIA Ag CELISA
TABLEAU 1: SENSIBILITE, SPECIFICITE ET AUTRES DONNEES DU TEST MALARIA Ag CELISA
TABELLE 1: SENSITIVITÄT, SPEZIFITÄT UND ANDERE DATEN ZUM MALARIA Ag CELISA
TABLA 1: SENSIBILIDAD, ESPECIFICIDAD Y OTROS DATOS DEL MALARIA Ag CELISA

Trial Essai Versuch Prueba	**Sensitivity** Sensibilité Sensitivität Sensibilidad	**Specificity** Spécificité Spezifität Especificidad	**Repeatability** Répétabilité Wiederholpräzision Repetibilidad	**Reproducibility** Reproductibilité Reproduzierbarkeit Reproducibilidad
A	98.1%	96.2%	-	-
B	98%	96%	-	-
C	-	-	Positive CV = 5.65%	Positive CV = 9.72%

EXPLANATION OF SYMBOLS

Consult Instructions for Use
Consulter le Mode d'Emploi
Gebrauchsanweisung
Consultar el manual de instrucciones

IVD
In Vitro Diagnostic Medical Device
Produit Diagnostic Médical In Vitro
In-vitro-Diagnostika
Producto Sanitario para Diagnóstico In Vitro

Temperature Limitation
Températures Limites
Temperaturbegrenzung
Límite de temperatura

Biological Risks
Risques Biologiques
Biogefährdung
Riesgo biológico

0

EC REP
Authorised Representative in the EC
Représentant Autorisé dans la EC
Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft
Representante autorizado en la EC

MDCI Ltd
Arundel House, 1 Liverpool Gardens
Worthing, West Sussex BN11 1SL
United Kingdom

Manufacturer
Fabricant
Hersteller
Fabricante

Cellabs Pty Ltd
Unit 7, 27 Dale Street (PO Box 421)
Brookvale, NSW 2100 Australia
Tel: +61 2 9905 0133 Fax: +61 2 9905 6426
Web: http://www.cellabs.com.au
Email: sales@cellabs.com.au

Insert Version
Manuel Version
Fassung der Packungsbeilage
Versión del manual de instrucciones

en fr de es
LM2.13 - PDF
12th February 2004